

INTERNATIONAL COOPERATION TREATY

PCT

NOTIFICATION OF ELECTION

(PCT Rule 61.2)

From the INTERNATIONAL BUREAU

To:

Assistant Commissioner for Patents
United States Patent and Trademark
Office
Box PCT
Washington, D.C.20231
ÉTATS-UNIS D'AMÉRIQUE

in its capacity as elected Office

Date of mailing: 02 September 1999 (02.09.99)	
International application No.: PCT/JP99/00833	Applicant's or agent's file reference: YCT-393
International filing date: 24 February 1999 (24.02.99)	Priority date: 26 February 1998 (26.02.98)
Applicant: KINOSHITA, Shigeru	

1. The designated Office is hereby notified of its election made:

☒ in the demand filed with the International preliminary Examining Authority on:
24 February 1999 (24.02.99)

☐ in a notice effecting later election filed with the International Bureau on:

2. The election ☒ was

☐ was not

made before the expiration of 19 months from the priority date or, where Rule 32 applies, within the time limit under Rule 32.2(b).

The International Bureau of WIPO 34, chemin des Colombettes 1211 Geneva 20, Switzerland Facsimile No.: (41-22) 740.14.35	Authorized officer: J. Zahra Telephone No.: (41-22) 338.83.38
---	---

特 許 協 力 条 約

発信人 日本国特許庁（国際予備審査機関）

出願人代理人 社本 一夫 殿 あて名 〒 100-0004 東京都千代田区大手町2丁目2番1号 新大手町ビル206区 ユアサハラ法律特許事務所
--

PCT
国際予備審査報告の送付の通知書

(法施行規則第57条)
[PCT規則71.1]

発送日
(日.月.年) 31.08.99

出願人又は代理人 の書類記号 YCT-393

重要な通知

国際出願番号 PCT/J P 99/00833	国際出願日 (日.月.年) 24.02.99	優先日 (日.月.年) 26.02.98
----------------------------	---------------------------	-------------------------

出願人（氏名又は名称） 中外製薬株式会社

1. 国際予備審査機関は、この国際出願に関して国際予備審査報告及び付属書類が作成されている場合には、それらをこの送付書とともに送付することを、出願人に通知する。

2. 国際予備審査報告及び付属書類が作成されている場合には、すべての選択官庁に通知するために、それらの写しを国際事務局に送付する。

3. 選択官庁から要求があったときは、国際事務局は国際予備審査報告（付属書類を除く）の英語の翻訳文を作成し、それをその選択官庁に送付する。

4. 注 意

出願人は、各選択官庁に対し優先日から30月以内に（官庁によってはもっと遅く）所定の手続（翻訳文の提出及び国内手数料の支払い）をしなければならない（PCT39条（1））（様式PCT/IB/301とともに国際事務局から送付された注を参照）。

国際出願の翻訳文が選択官庁に提出された場合には、その翻訳文は、国際予備審査報告の付属書類の翻訳文を含まなければならない。

この翻訳文を作成し、関係する選択官庁に直接送付するのは出願人の責任である。

選択官庁が適用する期間及び要件の詳細については、PCT出願人の手引き第II巻を参照すること。

名称及びあて名 日本国特許庁（IPEA/J P） 郵便番号100-8915 東京都千代田区霞が関三丁目4番3号	権限のある職員 特 許 庁 長 官 電話番号 03-3581-1101 内線 3452	4 C	9 4 5 4
--	---	-----	---------

12T
Translation
09/623138

PATENT COOPERATION TREATY

PCT

INTERNATIONAL PRELIMINARY EXAMINATION REPORT

(PCT Article 36 and Rule 70)

RECEIVED
MAR 12 2002
TECH CENTER 1600/200

Applicant's or agent's file reference YCT-393	FOR FURTHER ACTION See Notification of Transmittal of International Preliminary Examination Report (Form PCT/IPEA/406)	
International application No. PCT/JP99/00833	International filing date (day/month/year) 24 February 1999 (24.02.99)	Priority date (day/month/year) 26 February 1998 (26.02.98)
International Patent Classification (IPC) or national classification and IPC A61K 31/59		
Applicant CHUGAI SEIYAKU KABUSHIKI KAISHA		

1.	This international preliminary examination report has been prepared by this International Preliminary Examining Authority and is transmitted to the applicant according to Article 36.
2.	This REPORT consists of a total of <u>4</u> sheets, including this cover sheet. <input type="checkbox"/> This report is also accompanied by ANNEXES, i.e., sheets of the description, claims and/or drawings which have been amended and are the basis for this report and/or sheets containing rectifications made before this Authority (see Rule 70.16 and Section 607 of the Administrative Instructions under the PCT). These annexes consist of a total of _____ sheets.
3.	This report contains indications relating to the following items: I <input checked="" type="checkbox"/> Basis of the report II <input type="checkbox"/> Priority III <input type="checkbox"/> Non-establishment of opinion with regard to novelty, inventive step and industrial applicability IV <input type="checkbox"/> Lack of unity of invention V <input checked="" type="checkbox"/> Reasoned statement under Article 35(2) with regard to novelty, inventive step or industrial applicability; citations and explanations supporting such statement VI <input type="checkbox"/> Certain documents cited VII <input type="checkbox"/> Certain defects in the international application VIII <input type="checkbox"/> Certain observations on the international application

Date of submission of the demand 24 February 1999 (24.02.99)	Date of completion of this report 24 August 1999 (24.08.1999)
Name and mailing address of the IPEA/JP Facsimile No.	Authorized officer Telephone No.

INTERNATIONAL PRELIMINARY EXAMINATION REPORT

International application No.

PCT/JP99/00833

I. Basis of the report

1. With regard to the **elements** of the international application:*

- ☒ the international application as originally filed
- ☐ the description:
 pages _____, as originally filed
 pages _____, filed with the demand
 pages _____, filed with the letter of _____
- ☐ the claims:
 pages _____, as originally filed
 pages _____, as amended (together with any statement under Article 19
 pages _____, filed with the demand
 pages _____, filed with the letter of _____
- ☐ the drawings:
 pages _____, as originally filed
 pages _____, filed with the demand
 pages _____, filed with the letter of _____
- ☐ the sequence listing part of the description:
 pages _____, as originally filed
 pages _____, filed with the demand
 pages _____, filed with the letter of _____

2. With regard to the **language**, all the elements marked above were available or furnished to this Authority in the language in which the international application was filed, unless otherwise indicated under this item.

These elements were available or furnished to this Authority in the following language _____ which is:

- ☐ the language of a translation furnished for the purposes of international search (under Rule 23.1(b)).
- ☐ the language of publication of the international application (under Rule 48.3(b)).
- ☐ the language of the translation furnished for the purposes of international preliminary examination (under Rule 55.2 and/or 55.3).

3. With regard to any **nucleotide and/or amino acid sequence** disclosed in the international application, the international preliminary examination was carried out on the basis of the sequence listing:

- ☐ contained in the international application in written form.
- ☐ filed together with the international application in computer readable form.
- ☐ furnished subsequently to this Authority in written form.
- ☐ furnished subsequently to this Authority in computer readable form.
- ☐ The statement that the subsequently furnished written sequence listing does not go beyond the disclosure in the international application as filed has been furnished.
- ☐ The statement that the information recorded in computer readable form is identical to the written sequence listing has been furnished.

4. ☐ The amendments have resulted in the cancellation of:

- ☐ the description, pages _____
- ☐ the claims, Nos. _____
- ☐ the drawings, sheets/fig _____

5. ☐ This report has been established as if (some of) the amendments had not been made, since they have been considered to go beyond the disclosure as filed, as indicated in the Supplemental Box (Rule 70.2(c)).**

* Replacement sheets which have been furnished to the receiving Office in response to an invitation under Article 14 are referred to in this report as "originally filed" and are not annexed to this report since they do not contain amendments (Rule 70.16 and 70.17).

** Any replacement sheet containing such amendments must be referred to under item 1 and annexed to this report.

INTERNATIONAL PRELIMINARY EXAMINATION REPORT

International application No.

PCT/JP 99/00833

V. Reasoned statement under Article 35(2) with regard to novelty, inventive step or industrial applicability; citations and explanations supporting such statement

1. Statement

Novelty (N)	Claims	5-10	YES
	Claims	1-4	NO
Inventive step (IS)	Claims		YES
	Claims	1-10	NO
Industrial applicability (IA)	Claims	1-10	YES
	Claims		NO

2. Citations and explanations

Claims 1-4

Document 1 cited in the international search report (T. N. Dam et al., "The vitamin D₃ analog calcipotriol suppresses the number and antigen-presenting function of Langerhans cells in normal human skin", J. Invest. Dermatol. Symp. Proc. (1996), Vol. 1, No. 1, pp. 72-77) indicates that 1,25(OH)₂-vitamin D₃ and calcipotriol suppress Langerhans cells and suppress immune reaction, and also that Langerhans cells have a vitamin D receptor.

Document 2 (M. Bagot et al., "Immunosuppressive effects of 1,25-dihydroxy vitamin D₃ and its analog calcipotriol on epidermal cells", Br. J. Dermatol., (1994), Vol. 130, No. 4, pp. 424-31) indicates that 1,25(OH)₂-vitamin D₃ and calcipotriol act directly on Langerhans cells in human skin, and suppress immune reaction.

Therefore, Claims 1-4 are obvious because they are disclosed in Documents 1 and 2 cited in the international search report.

Claims 5-10

Document 3 (N. Takaura et al., "The distribution of cells positive for S-100 protein in conjunctiva", Acta Societatis Ophthalmologicae Japonicae, (1995), Vol. 99, No.

8, pp. 873-877) discloses the existence of classic Langerhans cells in the stroma of the cornea at the limbus, states that since Langerhans cells are immune cells and strongly express major histocompatibility complex (MHC) Class II antigens as surface antigens they are thought to act as antigen presenting cells in the superficial tissues of the body transmitting antigen information from the outside world to T lymphocytes, and indicates that more positive cells were noted in sites such as around the blood vessels of beneath the epithelium of the limbus of the cornea and in the stroma of the cornea at the limbus in a group with allergic conjunctivitis than in a normal group, that Langerhans cells contribute to seasonal allergies as well as delayed hypersensitivity and in patients with allergic conjunctivitis such as vernal conjunctivitis there is an increase in Langerhans cells in the conjunctival epithelium and the stroma, and that the increase in cells positive for S-100 protein, thought to be Langerhans cells, appears to be a histological manifestation of changes in Langerhans cells due to allergic reaction.

And Document 1 indicates that there is a vitamin D receptor in Langerhans cells and that vitamin D compounds such as $1,25(\text{OH})_2$ -vitamin D_3 suppress immune reaction.

Therefore, the use of vitamin D compounds such as $1,25(\text{OH})_2$ -vitamin D_3 as eye drops for treating different inflammatory conditions of the eye as in Claims 5-10 is obvious from the disclosures in Documents 1 and 3.

09/623138
422 Recd PCT/PTO 28 AUG 2000

**COURTESY COPY OF THE
INTERNATIONAL PRELIMINARY
EXAMINATION REPORT IN JAPANESE**

PCT

国際予備審査報告

(法第12条、法施行規則第56条)
[PCT36条及びPCT規則70]

REC'D 03 SEP 1999

WIPO PCT

出願人又は代理人 の書類記号 YCT-393	今後の手続きについては、国際予備審査報告の送付通知(様式PCT/ IPEA/416)を参照すること。	
国際出願番号 PCT/J P 99/00833	国際出願日 (日.月.年) 24.02.99	優先日 (日.月.年) 26.02.98
国際特許分類(IPC) Int. Cl. ⁸ A61K31/59		
出願人(氏名又は名称) 中外製薬株式会社		

1. 国際予備審査機関が作成したこの国際予備審査報告を法施行規則第57条(PCT36条)の規定に従い送付する。
2. この国際予備審査報告は、この表紙を含めて全部で 3 ページからなる。
- ☐ この国際予備審査報告には、附属書類、つまり補正されて、この報告の基礎とされた及び/又はこの国際予備審査機関に対してした訂正を含む明細書、請求の範囲及び/又は図面も添付されている。
(PCT規則70.16及びPCT実施細則第607号参照)
この附属書類は、全部で ページである。

3. この国際予備審査報告は、次の内容を含む。
- I ☒ 国際予備審査報告の基礎
 - II ☐ 優先権
 - III ☐ 新規性、進歩性又は産業上の利用可能性についての国際予備審査報告の不作成
 - IV ☐ 発明の単一性の欠如
 - V ☒ PCT35条(2)に規定する新規性、進歩性又は産業上の利用可能性についての見解、それを裏付けるための文献及び説明
 - VI ☐ ある種の引用文献
 - VII ☐ 国際出願の不備
 - VIII ☐ 国際出願に対する意見

国際予備審査の請求書を受理した日 24.02.99	国際予備審査報告を作成した日 24.08.99	
名称及びあて先 日本国特許庁(IPEA/J P) 郵便番号100-8915 東京都千代田区霞が関三丁目4番3号	特許庁審査官(権限のある職員) 上條 のぶよ	4C 9454
電話番号 03-3581-1101 内線 3452		

I. 国際予備審査報告の基礎

1. この国際予備審査報告は下記の出願書類に基づいて作成された。(法第6条(PCT 14条)の規定に基づく命令に
応答するために提出された差し替え用紙は、この報告書において「出願時」とし、本報告書には添付しない。
PCT規則70.16, 70.17)

☒ 出願時の国際出願書類

- ☐ 明細書 第 _____ ページ、 出願時に提出されたもの
明細書 第 _____ ページ、 国際予備審査の請求書と共に提出されたもの
明細書 第 _____ ページ、 _____ 付の書簡と共に提出されたもの
- ☐ 請求の範囲 第 _____ 項、 出願時に提出されたもの
請求の範囲 第 _____ 項、 PCT 19条の規定に基づき補正されたもの
請求の範囲 第 _____ 項、 国際予備審査の請求書と共に提出されたもの
請求の範囲 第 _____ 項、 _____ 付の書簡と共に提出されたもの
- ☐ 図面 第 _____ ページ/図、 出願時に提出されたもの
図面 第 _____ ページ/図、 国際予備審査の請求書と共に提出されたもの
図面 第 _____ ページ/図、 _____ 付の書簡と共に提出されたもの
- ☐ 明細書の配列表の部分 第 _____ ページ、 出願時に提出されたもの
明細書の配列表の部分 第 _____ ページ、 国際予備審査の請求書と共に提出されたもの
明細書の配列表の部分 第 _____ ページ、 _____ 付の書簡と共に提出されたもの

2. 上記の出願書類の言語は、下記に示す場合を除くほか、この国際出願の言語である。

上記の書類は、下記の言語である _____ 語である。

- ☐ 国際調査のために提出されたPCT規則23.1(b)という翻訳文の言語
☐ PCT規則48.3(b)という国際公開の言語
☐ 国際予備審査のために提出されたPCT規則55.2または55.3という翻訳文の言語

3. この国際出願は、ヌクレオチド又はアミノ酸配列を含んでおり、次の配列表に基づき国際予備審査報告を行った。

- ☐ この国際出願に含まれる書面による配列表
☐ この国際出願と共に提出されたフレキシブルディスクによる配列表
☐ 出願後に、この国際予備審査(または調査)機関に提出された書面による配列表
☐ 出願後に、この国際予備審査(または調査)機関に提出されたフレキシブルディスクによる配列表
☐ 出願後に提出した書面による配列表が出願時における国際出願の開示の範囲を超える事項を含まない旨の陳述書の提出があった
☐ 書面による配列表に記載した配列とフレキシブルディスクによる配列表に記録した配列が同一である旨の陳述書の提出があった。

4. 補正により、下記の書類が削除された。

- ☐ 明細書 第 _____ ページ
☐ 請求の範囲 第 _____ 項
☐ 図面 図面の第 _____ ページ/図

5. ☐ この国際予備審査報告は、補充欄に示したように、補正が出願時における開示の範囲を越えてされたものと認められるので、その補正がされなかったものとして作成した。(PCT規則70.2(c) この補正を含む差し替え用紙は上記1.における判断の際に考慮しなければならず、本報告に添付する。)

V. 新規性、進歩性又は産業上の利用可能性についての法第12条(PCT35条(2))に定める見解、それを裏付ける文献及び説明

1. 見解

新規性(N)	請求の範囲	5-10	有
	請求の範囲	1-4	無
進歩性(IS)	請求の範囲		有
	請求の範囲	1-10	無
産業上の利用可能性(IA)	請求の範囲	1-10	有
	請求の範囲		無

2. 文献及び説明(PCT規則70.7)

請求の範囲1-4について

国際調査報告で引用された文献1(T. N. Dam et.al, 'The Vitamin D₃ Analog Calcipotriol Suppresses the Number and Antigen-Presenting Function of Langerhans Cells in Normal Human Skin.', J. Invest. Dermatol. Symp. Proc., (1996), Vol. 1, No. 1, p. 72-77)には、1,25(OH)₂-vitamin D₃及びcalcipotriolがランゲルハンス細胞に対して抑制作用を有し、免疫反応を抑制すること、ランゲルハンス細胞にビタミンDレセプターが存在することが記載されている。

文献2(M. Bagot et.al, 'Immunosuppressive effects of 1,25-dihydroxy vitamin D₃ and its analog calcipotriol on epidermal cells.', Br. J. Dermatol., (1994), Vol. 130, No. 4, p. 424-31)には、1,25(OH)₂-vitamin D₃及びcalcipotriolが、ヒトの皮膚において、ランゲルハンス細胞に対して直接作用し、免疫反応を抑制することが記載されている。

したがって、請求の範囲1-4は、国際調査報告で引用された文献1, 2の記載から、自明である。

請求の範囲5-10について

文献3(高浦典子等, 「結膜におけるS-100蛋白溶性細胞の分布」, 日本眼科学会雑誌, (1995), Vol. 99, No. 8, p. 873-7)には、角膜輪部実質中に典型的なランゲルハンス細胞が存在すること、ランゲルハンス細胞は免疫細胞として、表面抗原の主要組織適合遺伝子複合体MHCクラスII抗原を強く発現していることから、体表面の組織において外界などからの抗原情報をTリンパ球へ伝達する抗原提示細胞として働いていると考えられること、正常群と比較してアレルギー性結膜炎群の角膜輪部上皮下の血管周囲や角膜輪部実質内などの場所で陽性細胞が多く認められたこと、春季カタルなどのアレルギー性結膜疾患において、結膜上皮および実質内でランゲルハンス細胞が増加しており、遅延型過敏反応ばかりでなく、即時型アレルギーに対してもランゲルハンス細胞が関与していること、ランゲルハンス細胞と考えられるS-100蛋白陽性細胞の増加は、アレルギー反応によるランゲルハンス細胞の変化が組織学的に観察されたものと考えられることが記載されている。

そして、文献1には、ランゲルハンス細胞にはビタミンDレセプターが存在し、1,25(OH)₂-vitamin D₃等のビタミンD化合物が免疫反応を抑制することが記載されている。

そうしてみると、1,25(OH)₂-vitamin D₃等のビタミンD化合物を点眼剤として、種々の眼の炎症の治療に用いるものとし、請求の範囲5-10とすることは、国際調査報告で引用された文献1, 3の記載から、自明である。

EP



PCT

国際調査報告

(法8条、法施行規則第40、41条)
[PCT18条、PCT規則43、44]

出願人又は代理人 の書類記号 YCT-393	今後の手続きについては、国際調査報告の送付通知様式(PCT/ISA/220)及び下記5を参照すること。	
国際出願番号 PCT/JP99/00833	国際出願日 (日.月.年) 24.02.99	優先日 (日.月.年) 26.02.98
出願人(氏名又は名称) 中外製薬株式会社		

国際調査機関が作成したこの国際調査報告を法施行規則第41条(PCT18条)の規定に従い出願人に送付する。
この写しは国際事務局にも送付される。

この国際調査報告は、全部で 3 ページである。

☐ この調査報告に引用された先行技術文献の写しも添付されている。

1. 国際調査報告の基礎

- a. 言語は、下記に示す場合を除くほか、この国際出願がされたものに基づき国際調査を行った。
☐ この国際調査機関に提出された国際出願の翻訳文に基づき国際調査を行った。
- b. この国際出願は、ヌクレオチド又はアミノ酸配列を含んでおり、次の配列表に基づき国際調査を行った。
☐ この国際出願に含まれる書面による配列表
☐ この国際出願と共に提出されたフレキシブルディスクによる配列表
☐ 出願後に、この国際調査機関に提出された書面による配列表
☐ 出願後に、この国際調査機関に提出されたフレキシブルディスクによる配列表
☐ 出願後に提出した書面による配列表が出願時における国際出願の開示の範囲を超える事項を含まない旨の陳述書の提出があった。
☐ 書面による配列表に記載した配列とフレキシブルディスクによる配列表に記載した配列が同一である旨の陳述書の提出があった。

2. ☐ 請求の範囲の一部の調査ができない(第I欄参照)。

3. ☐ 発明の単一性が欠如している(第II欄参照)。

4. 発明の名称は ☒ 出願人が提出したものを承認する。
☐ 次に示すように国際調査機関が作成した。

5. 要約は ☒ 出願人が提出したものを承認する。
☐ 第III欄に示されているように、法施行規則第47条(PCT規則38.2(b))の規定により国際調査機関が作成した。出願人は、この国際調査報告の発送の日から1カ月以内にこの国際調査機関に意見を提出することができる。

6. 要約書とともに公表される図は、
 第 _____ 図とする、☐ 出願人が示したとおりである。 ☒ なし
☐ 出願人は図を示さなかった。
☐ 本図は発明の特徴を一層よく表している。

A. 発明の属する分野の分類 (国際特許分類 (IPC))

Int. Cl.⁸ A61K31/59

B. 調査を行った分野

調査を行った最小限資料 (国際特許分類 (IPC))

Int. Cl.⁸ A61K31/59

最小限資料以外の資料で調査を行った分野に含まれるもの

国際調査で使用した電子データベース (データベースの名称、調査に使用した用語)

CA (STN)

C. 関連すると認められる文献

引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求の範囲の番号
X Y	T. N. Dam et.al, 'The Vitamin D ₃ Analog Calcipotriol Suppresses the Number and Antigen-Presenting Function of Langerhans Cells in Normal Human Skin.', J. Invest. Dermatol. Symp. Proc., (1996), Vol.1, No.1, p.72-77	1-4 5-10
X Y	M. Bagot et.al, 'Immunosuppressive effects of 1,25-dihydroxy vitamin D ₃ and its analog calcipotriol on epidermal cells.', Br. J. Dermatol., (1994), Vol.130, No.4, p.424-31	1-4 5-10
Y	高浦典子等, 「結膜における S-100 蛋白溶性細胞の分布」, 日本眼科学会雑誌, (1995), Vol.99, No.8, p.873-7	5-10

☒ C欄の続きにも文献が列挙されている。☐ パテントファミリーに関する別紙を参照。

* 引用文献のカテゴリー

- 「A」 特に関連のある文献ではなく、一般的技術水準を示すもの
「E」 国際出願日前の出願または特許であるが、国際出願日以後に公表されたもの
「L」 優先権主張に疑義を提起する文献又は他の文献の発行日若しくは他の特別な理由を確立するために引用する文献 (理由を付す)
「O」 口頭による開示、使用、展示等に言及する文献
「P」 国際出願日前で、かつ優先権の主張の基礎となる出願

の日の後に公表された文献

「T」 国際出願日又は優先日後に公表された文献であって出願と矛盾するものではなく、発明の原理又は理論の理解のために引用するもの

「X」 特に関連のある文献であって、当該文献のみで発明の新規性又は進歩性がないと考えられるもの

「Y」 特に関連のある文献であって、当該文献と他の1以上の文献との、当業者にとって自明である組合せによって進歩性がないと考えられるもの

「&」 同一パテントファミリー文献

国際調査を完了した日

17.05.99

国際調査報告の発送日

01.06.99

国際調査機関の名称及びあて先

日本国特許庁 (ISA/J P)

郵便番号 100-8915

東京都千代田区霞が関三丁目4番3号

特許庁審査官 (権限のある職員)

上條 のぶよ



4C

9454

電話番号 03-3581-1101 内線 3452

C (続き) . 関連すると認められる文献		
引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求の範囲の番号
A	石崎道治, 「春季カタル」, あたらしい眼科, (1993), Vol.10, No.11, p.1821-30	5-10
A	Z. Guo et.al, 'The effect of 1,25(OH) ₂ -vitamin D ₃ on Langerhans cells and contact hypersensitivity in mice.', Arch. Dermatol. Res., (1992), Vol.284, No.6, p.368-70	1-10

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/JP99/00833

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER
Int.Cl⁶ A61K31/59

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)
Int.Cl⁶ A61K31/59

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)
CA (STN)

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X Y	T. N. Dam et al., "The Vitamin D ₃ Analog Calcipotriol Suppresses the Number and Antigen-Presenting Function of Langerhans Cells in Normal Human Skin.", J. Invest. Dermatol. Symp. Proc., (1996), Vol. 1, No. 1, p.72-77	1-4 5-10
X Y	M. Bagot et al., "Immunosuppressive effects of 1,25-dihydroxy vitamin D ₃ and its analog calcipotriol on epidermal cells.", Br. J. dermatol., (1994), Vol. 130, No. 4, p.424-31	1-4 5-10
Y	Noriko Takaura et al., "Ketsumaku ni okeru S-100 tampaku yousei saibou no bumpu", Acta Societatis Ophthalmologicae Japonicae, (1995), Vol. 99, No. 8, p.873-7	5-10
A	Michiharu Ishizaki, "Shunki kataru", Atarashii Ganka, (1993), Vol. 10, No. 11, p.1821-30	5-10

☒ Further documents are listed in the continuation of Box C. ☐ See patent family annex.

* Special categories of cited documents:
 "A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance
 "E" earlier document but published on or after the international filing date
 "L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)
 "O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means
 "P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention
 "X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone
 "Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art
 "&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search
17 May, 1999 (17. 05. 99)

Date of mailing of the international search report
1 June, 1999 (01. 06. 99)

Name and mailing address of the ISA/
Japanese Patent Office

Authorized officer

Facsimile No.

Telephone No.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP99/00833

C (Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	Z. Guo et al., "The effect of 1,25(OH) ₂ -vitamin D ₃ on Langerhans cells and contact hypersensitivity in mice", Arch. Dermatol. Res., (1992), Vol. 284, No. 6, p.368-70	1-10



PCT

特許協力条約に基づいて公開された国際出願

<p>(51) 国際特許分類6 A61K 31/59</p>	<p>A1</p>	<p>(11) 国際公開番号 WO99/43330</p> <p>(43) 国際公開日 1999年9月2日(02.09.99)</p>
<p>(21) 国際出願番号 PCT/JP99/00833</p> <p>(22) 国際出願日 1999年2月24日(24.02.99)</p> <p>(30) 優先権データ 特願平10/44757 1998年2月26日(26.02.98) JP</p> <p>(71) 出願人 (米国を除くすべての指定国について) 中外製薬株式会社 (CHUGAI SEIYAKU KABUSHIKI KAISHA)[JP/JP] 〒115-8543 東京都北区浮間5丁目5番1号 Tokyo, (JP)</p> <p>(72) 発明者 ; および (75) 発明者 / 出願人 (米国についてのみ) 木下 茂(KINOSHITA, Shigeru)[JP/JP] 〒602-0841 京都府京都市上京区河原町通広小路上ル梶井町 京都府立医科大学内 Kyoto, (JP)</p> <p>(74) 代理人 弁理士 社本一夫, 外(SHAMOTO, Ichio et al.) 〒100-0004 東京都千代田区大手町二丁目2番1号 新大手町ビル206区 ユアサハラ法律特許事務所 Tokyo, (JP)</p>		<p>(81) 指定国 AL, AM, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BY, CA, CH, CN, CU, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KR, KZ, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LV, MD, MG, MK, MN, MW, MX, NO, NZ, PL, PT, RO, RU, SD, SE, SG, SI, SK, SL, TJ, TM, TR, TT, UA, UG, US, UZ, VN, YU, ZW, 欧州特許 (AT, BE, CH, CY, DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE), OAPI特許 (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG), ARIPO特許 (GH, GM, KE, LS, MW, SD, SZ, UG, ZW), ユーラシア特許 (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM)</p> <p>添付公開書類 国際調査報告書</p>
<p>(54) Title: LANGERHANS CELL MIGRATION INHIBITORS</p> <p>(54) 発明の名称 ランゲルハンス細胞遊走阻害剤</p> <p>(57) Abstract Langerhans cell migration inhibitors containing activated vitamin D as the active ingredient. These inhibitors are useful in preventing inflammations caused by immune reactions in the skin or cornea and treating these inflammations after onset while showing little side effect.</p>		

(57)要約

本発明は、活性型ビタミンDを有効成分とするランゲルハンス細胞遊走阻害剤を提供する。このランゲルハンス細胞遊走阻害剤は、皮膚や角膜の免疫反応による炎症を予防し、並びに炎症が発生した後にはそれを治療するのに有用であり、副作用が少ない。

PCTに基づいて公開される国際出願のパンフレット第一頁に掲載されたPCT加盟国を同定するために使用されるコード(参考情報)

AE アラブ首長国連邦	DM ドミニカ	KZ カザフスタン	SD スーダン
AL アルバニア	EE エストニア	LC セントルシア	SE スウェーデン
AM アルメニア	ES スペイン	LI リヒテンシュタイン	SG シンガポール
AT オーストリア	FI フィンランド	LK スリ・ランカ	SI スロヴェニア
AU オーストラリア	FR フランス	LR リベリア	SK スロヴァキア
AZ アゼルバイジャン	GA ガボン	LS レソト	SL シェラ・レオネ
BA ボスニア・ヘルツェゴビナ	GB 英国	LT リトアニア	SN セネガル
BB バルバドス	GD グレナダ	LU ルクセンブルグ	SZ スワジランド
BE ベルギー	GE グルジア	LV ラトヴィア	TD チャード
BG ブルガリア	GH ガーナ	MC モナコ	TG トーゴ
BF ブルキナ・ファソ	GM ガンビア	MD モルドヴァ	TJ タジキスタン
BH バ레인	GN ギニア	MG マダガスカル	TZ タンザニア
BR ブラジル	GW ギニア・ビサウ	MK マケドニア旧ユーゴスラヴィア	TM トルクメニスタン
BY ベラルーシ	GR ギリシャ	共和国	TR トルコ
CA カナダ	HR クロアチア	マリ	TT トリニダード・トバゴ
CF 中央アフリカ	HU ハンガリー	ML モンゴル	UA ウクライナ
CG コンゴ	ID インドネシア	MN モーリタニア	UG ウガンダ
CH スイス	IE アイルランド	MW マラウイ	US 米国
CI コートジボアール	IL イスラエル	MX メキシコ	UZ ウズベキスタン
CM カメルーン	IN インド	NE ニジェール	VN ヴェトナム
CN 中国	IS アイスランド	NL オランダ	YU ユーゴスラビア
CR コスタ・リカ	IT イタリア	NO ノールウェー	ZA 南アフリカ共和国
CU キューバ	JP 日本	NZ ニュー・ジーランド	ZW ジンバブエ
CY キプロス	KE ケニア	PL ポーランド	
CZ チェッコ	KG キルギスタン	PT ポルトガル	
DE ドイツ	KP 北朝鮮	RO ルーマニア	

明 細 書

ランゲルハンス細胞遊走阻害剤

5 技術分野

本発明は、ランゲルハンス細胞遊走阻害剤に関し、より特定のには、活性型ビタミンDを有効成分とするランゲルハンス細胞遊走阻害剤に関する。

背景技術

- 10 ランゲルハンス細胞は、皮膚への外来抗原を取り込んで、リンパ管に移動し、
ベール細胞となってその抗原を細胞内で部分分解し、次いで近くのリンパ系器官
に移動してT細胞にこの抗原を提示することにより、そのT細胞を接触皮膚炎を
引き起こす細胞へと分化させる。また、ランゲルハンス細胞は、角膜において、
角膜輪部から中央部へ侵入して種々のサイトカインを産生し、免疫反応性の炎症
15 を引き起こすことが知られている。

- このように、ランゲルハンス細胞は、皮膚及び角膜における免疫反応による炎症の発生段階に深く関与する細胞であるから、外来抗原の侵入部位においてその細胞数を少なく維持すれば、周辺における炎症の予防が可能になると考えられる。とりわけ、角膜における炎症は、角膜の透明性を低下させて患者の視力を低下させるので、その予防は特に重要である。
20

現在、皮膚や角膜の免疫反応を抑制するには、ステロイドやシクロスポリンA等の強力な薬剤が使用されているが、これら薬剤は種々の副作用を有するので、炎症が発生していない段階では使用し難い。従って、炎症が発生する前でも安心して使用できる、より副作用が少ない薬剤の開発が望まれている。

- 25 米国特許第4,610,478号は、活性型ビタミンDである1- α -ヒドロキシルコレカルシフェロール又は1- α ,25-ジヒドロキシルコレカルシフェロールを含有する、皮膚炎の局所処置のための組成物を開示している。

特表平5-503922(WO91/05537)は、ビタミンD化合物を患者に投与することからなる、創傷の治療を促進する方法を開示している。

WO 96 / 2 9 0 7 9 は、活性型ビタミンDを有効成分とする、眼球前眼部内の炎症を治療するための眼科用組成物を開示している。

これら文献は、ステロイド等に代えて活性型ビタミンDを用いることにより、副作用の少ない抗炎症剤及び治療方法を提供するものであるが、いずれも既に発生した炎症の治療に向けられており、免疫反応性の炎症の発生段階に深く関係するランゲルハンス細胞の遊走を阻害することを示唆していない。

本発明は、皮膚や角膜の免疫反応による炎症を予防し、並びに炎症が発生した後はそれを治療することもできる、より副作用の少ない医薬組成物を提供することを目的とする。

10

発明の開示

本発明は、活性型ビタミンDを有効成分とするランゲルハンス細胞遊走阻害剤を提供する。この活性型ビタミンDは、好ましくは活性型ビタミンD₃、ビタミンD₃誘導体又はビタミンD₃類似体であり、より好ましくは活性型ビタミンD₃であり、そして最も好ましくはカルシトリオール又は22-オキサカルシトリオールである。

本発明のランゲルハンス細胞遊走阻害剤は、好ましくは点眼剤であることができ、眼の炎症、特に角結膜炎の予防及び治療並びに角膜フリクテン又は角膜浸潤の予防に用いることができる。

20

図面の簡単な説明

図1は、試験例1のマウスの角膜における新生血管のスコアを表わすグラフである。縦軸がスコアを表わし、横軸は縫合留置後の日数を表わす。

図2は、試験例2におけるカルシトリオール(1 α , 25(OH)₂D₃)のヒト角膜上皮細胞増殖への作用を示すグラフである。

図3は、試験例2におけるカルシトリオールのIL-1 α 産生への作用を示すグラフである。

図4は、試験例2におけるカルシトリオールのIL-1 β 産生への作用を示すグラフである。

図5は、試験例2におけるカルシトリオールのIL-8産生への作用を示すグラフである。

発明を実施するための好ましい形態

- 5 本発明のランゲルハンス細胞遊走阻害剤を適用すべき炎症としては、アレルギー性角結膜炎、春季カタル、及びび慢性角結膜炎などの角結膜表層の炎症、並びに角膜炎、角膜炎及び角膜炎フликтンなどの角膜炎実質層に及ぶ炎症が挙げられる。特に、アレルギー性角結膜炎に適用するのが好ましい。

- 本発明の組成物の有効成分である活性型ビタミンDには、コレカルシフェロール誘導体、コレカルシフェロール類似体、エルゴカルシフェロール誘導体、エルゴカルシフェロール類似体、及び側鎖に親水基を設けた親水性の活性型ビタミンD類似体等が含まれる。これら活性型ビタミンDは、天然のものでも合成されたものであってもよい。具体的な活性型ビタミンDの例には、カルシトリオール
($1\alpha, 25$ -ジヒドロキシビタミンD₃ ($1\alpha, 25(\text{OH})_2\text{D}_3$))、 $1\alpha, 24$ -
15 ジヒドロキシビタミンD₃、アルファカルシドール (1α -ヒドロキシビタミンD₃)、カルシフェドール (25 -ヒドロキシビタミンD₃)、 $1\alpha, 25, 26$ -
トリヒドロキシビタミンD₃、 $1\beta, 25$ -ジヒドロキシビタミンD₃、 24 -
ホモ- $1\alpha, 25$ -ジヒドロキシビタミンD₃、 26 -ホモ- $1\alpha, 25$ -ジヒドロキシビタミンD₃、OCT (22 -オキサカルシトリオール)、及びカルシポ
20 トリオールが含まれる。好ましい活性型ビタミンDは、ビタミンD₃、ビタミンD₃誘導体及びビタミンD₃類似体である。具体的には、カルシトリオール及び
 22 -オキサカルシトリオールが挙げられる。

- 本発明のランゲルハンス細胞遊走阻害剤は、一般に、活性型ビタミンDを製剤上の担体と共に含有する医薬組成物の形態で用いられ、溶液剤又は軟膏剤などとして局所投与用に製剤される。眼科用組成物の塗布剤として製剤されるのが好ましく、特に点眼剤が好ましい。これら製剤に用いられる担体の例には、水、エタノール、エチレングリコール、プロピレングリコール、ポリビニルアルコール、ポリビニルピロリドン、アラビアガム、リン酸カルシウム、アルギネート、トラガcantガム、ゼラチン、メチルセルロース、タルク、ステアリン酸マグネシウム

ム、ヒアルロン酸、コンドロイチン硫酸、コラーゲン、油脂、又は鉱油が含まれるが、これらに限定されない。本発明の医薬組成物は、これら担体の他に、安定化剤、保存剤、等張化剤、pH調製剤、酸化防止剤、及び着色剤などの他の添加剤を含ませることができる。安定化剤には、亜硫酸水素ナトリウム、グリセリン、
5 エデト酸ナトリウム、クエン酸ナトリウム、及びブチルヒドロキシアニソールが含まれるが、これらに限定されない。保存剤には、塩化ベンザルコニウムが含まれるが、これらに限定されない。等張化剤には、塩化ナトリウム、D-マンニトール、グルコース、及びグリセリンが含まれるが、これらに限定されない。pH調製剤には、リン酸一ナトリウム、リン酸水素ナトリウムのようなリン酸塩、水
10 酸化ナトリウム、及び塩酸が含まれるが、これらに限定されない。酸化防止剤にはビタミンCが含まれるが、これらに限定されない。

本発明の医薬組成物は、当該技術分野で周知の方法により調製でき、速放性製剤、徐放性製剤、及び遅放性製剤のいずれの形態をとってもよい。本発明の組成物中における活性型ビタミンDの濃度は、その製剤の形態に依存して変動するが、
15 一般に約0.01 ng/ml～約1 µg/ml、好ましくは約1～約100 ng/mlである。

好ましい態様においては、活性型ビタミンDとして、カルシトリオール又は22-オキサカルシトリオールを、水又はエタノールに溶解させ、活性型ビタミンDの最終濃度が約1～約100 ng/mlである点眼剤を調製する。pHを一般
20 に約5.0～9.0、好ましくは約7.0～8.0に調節する。活性型ビタミンDが溶解し難い場合には、ポリソルベート80、プロピレングリコール、ポリビニルピロリドンK30、又はポロキサマー188のような可溶化剤を加えてもよい。こうして調製された点眼剤は、症状に応じて1日1～4回、1回あたり1～数滴点眼するのが典型的であるが、この回数に限定されるものではない。

25 本発明の組成物を、炎症を予防すべき部位に適用すると、免疫反応による炎症の発生を媒介すると考えられるランゲルハンス細胞の遊走が阻害される結果、その部位における炎症の発生を有意に防止することができる。また、炎症が既に発生している場合であっても、それを治療することができる。特に、炎症部位が角膜である場合には、角膜の透明性を低下させることなく炎症を治療することがで

きる。

以下に実施例を示して本発明を説明するが、これら実施例は本発明の範囲を限定するものではない。

実施例

5 実施例 1

活性型ビタミンD₃原液（1 α -ヒドロキシビタミンD₃含有量、50 mg/ml）をエタノールで1000倍に希釈し、これを更に眼科用生理緩衝液で100倍に希釈して、1 α -ヒドロキシビタミンD₃濃度が0.5 μ g/mlの眼科用組成物を調製した。

10 実施例 2

カルシトリオールをエタノールで1000倍に希釈し、これを更に精製ゴマ油よりなる眼科用油性基剤で100倍に希釈して、カルシトリオール濃度が0.5 μ g/mlの眼科用組成物を調製した。

実施例 3

- 15 60 mgのビタミンC（L-アスコルビン酸-リン酸）を実施例1のやり方で調製した10 mlの眼科用組成物に混合して溶解させ、ビタミンCが6 mg/mlで活性型ビタミンD₃が0.5 μ g/mlの混合液よりなる眼科用組成物を得た。

試験例 1

- 20 カルシトリオールを、リン酸ナトリウム、塩化ナトリウム、エタノール、及びポリソルベート80からなる基剤に溶解させて、それぞれ 1.0×10^{-6} M、 1.0×10^{-7} M、及び 1.0×10^{-8} Mの3種の溶液を調製した。別にステロイドであるデキサメタゾンナトリウムを同じ基剤に溶解させて0.1%の溶液を調製した。

- 25 BALB/cマウスの角膜にランゲルハンス細胞を遊走させるため、同マウス30匹の片眼角膜中央部に10-0ナイロン糸を通して2針縫合して留置した。1グループを5匹とするA～Fの6グループに分け、Aグループを無点眼グループ、Bグループをステロイド点眼グループ（St）、C～Eグループをそれぞれ上記3種の濃度のカルシトリオール点眼グループ、そしてFグループを基剤だけの点眼グループとした。

通糸翌日から3回／日の頻度で点眼を開始した。通糸14日後にマウスを屠殺して眼球を摘出し、免疫染色法で角膜上皮中央部におけるランゲルハンス細胞の密度の平均値を各グループごとに出した。結果を表1に示す。

表 1

5 角膜上皮中央部におけるランゲルハンス細胞の密度

グループ	密度 (細胞/mm ²)	p 値
A (無点眼)	5.0 ± 0.9	
B (S t)	1.0 ± 0.3	< 0.005
C (1.0 × 10 ⁻⁶ M)	3.3 ± 0.6	N. S.
D (1.0 × 10 ⁻⁷ M)	2.5 ± 0.7	< 0.05
E (1.0 × 10 ⁻⁸ M)	2.6 ± 0.5	< 0.025
F (基剤)	4.6 ± 0.8	

表1から、無点眼グループA及び基剤点眼グループFに比べて、カルシトリオール点眼グループのC～Eでは、ランゲルハンス細胞数が有意に減少していることが分かる。更に、カルシトリオールによる減少は濃度非依存的である。これは、ランゲルハンス細胞の遊走阻害に関してカルシトリオールが至適濃度を有する可能性を示唆している。一般に、免疫反応に関与する細胞の遊走阻害物質には、このような至適濃度を有するものが多い。

この点眼実験中、マウスの眼を1日おきに細隙灯顕微鏡で観察して、血管新生についても評価した。評価は、マウスの角膜を4象限にわけ各象限毎にその新生血管の長さを下記基準でスコアし、4象限のスコアの合計を1つの角膜の新生血管スコアとし(0～12点)、グループごとに平均値を出した。

スコア0：全く新生血管が認められないもの；

スコア1：新生血管の長さが角膜中央部(中心より1mm半径以内)に達しないもの；

スコア2：新生血管の長さが角膜中央部(中心より1mm半径以内)に達するが中心に及ばないもの；

スコア3：新生血管の長さが角膜中央に達するもの。

結果を図1に示す。図1から、カルシトリオールは血管新生の抑制効果も有す

ることが分かる。

試験例 2

実験：

カルシトリオール ($1\alpha, 25(\text{OH})_2\text{D}_3$) による角膜上皮におけるランゲル
5 ハンス細胞の遊走あるいは血管新生の抑制効果の作用機序を探るために、 $1\alpha, 25(\text{OH})_2\text{D}_3$ の存在下でヒト角膜上皮細胞を培養し、培養後の細胞数を測定し、更に、培地上清中におけるサイトカインの産生量を測定した。

佐々木博士 (大阪府, 豊中市立病院) から供与されたヒト角膜上皮細胞を、1
0 % のウシ胎児血清、 $5\mu\text{g}/\text{ml}$ のインスリン、 $0.1\mu\text{g}/\text{ml}$ のコレラト
10 キシン、 $10\text{ng}/\text{ml}$ のヒト EGF、0.5 % の DMSO、及び $40\mu\text{g}/\text{ml}$
1 のゲンタマイシンを含有するダルベッコ改変イーグル培地 (DMEM) / F-
12 (1/1) 中で、 37°C の温度、95 % の湿度、及び 5 % の二酸化炭素の条
件下で培養した。培地は 1 週間に 2 回の割合で交換した。

ヒト角膜上皮細胞がコンフルエントになった段階で、培地を、 $5\mu\text{g}/\text{ml}$ の
15 インスリン、 $5\text{mg}/\text{ml}$ のトランスフェリン、及び $5\text{ng}/\text{ml}$ のセレナイト
ナトリウムを含有する DMEM 無血清培地に変更した。48 時間培養した後、細
胞を 6 ウェルプレートに各々 4×10^6 個の割合で蒔き、エタノール中 0.1 % 濃
度の $1\alpha, 25(\text{OH})_2\text{D}_3$ を、2 ウェルずつの濃度が 1.0×10^{-7} 、 1.0×10^{-11}
0 及び $1.0 \times 10^{-15}\text{M}$ になるように添加して増殖させた。これらウェルを
20 $1\alpha, 25(\text{OH})_2\text{D}_3$ 濃度が異なる 3 ウェルからなる 2 組に分け、一方の組につ
いては 6 時間培養後に、他方については 12 時間後に細胞数を測定した。また、
その時点における培地を 150g にて 5 分間遠心分離して上清を得て、 -80°C
で保存した。これら実験は少なくとも 3 回行った。

対照として、 $1\alpha, 25(\text{OH})_2\text{D}_3$ で処理しなかったことを除いては同じよう
25 に処理した実験 (未処理) 及び $1\alpha, 25(\text{OH})_2\text{D}_3$ を含まないエタノールを添
加したことを除いては同じように処理した実験 (溶媒) も行った。

サイトカインの定量は、インターロイキン- 1α (IL- 1α)、インターロ
イキン- 1β (IL- 1β) 及びインターロイキン-8 (IL-8) について E
LISA キット (R & D System Corp.) を用いて行った。それぞれのサイトカイ

ンの定量限界は、 $IL-1\alpha$ については 0.5 pg/ml 、 $IL-1\beta$ については 1 pg/ml 、そして $IL-8$ については 10 pg/ml であった。比色定量はEL308 (Bio-tek Instrument, Wincoski) を用いて 450 nm で行った。3実験の測定結果を集計し、統計処理を対応のない t-test で行った。

5 結果：

細胞増殖に関し、図2に示すように、 $1\alpha, 25(\text{OH})_2\text{D}_3$ 処理群と溶媒添加対照群との間に有意な差は認められない。従って、in vitro における角膜上皮細胞増殖への $1\alpha, 25(\text{OH})_2\text{D}_3$ の影響は非常に弱いものである。

一方、サイトカインの量に関しては、図3～5に示すように、 $IL-1\alpha$ 、 $IL-1\beta$ 及び $IL-8$ の全てについて $1\alpha, 25(\text{OH})_2\text{D}_3$ による産生抑制効果が認められる。特に $IL-1\alpha$ 及び $IL-1\beta$ についての効果が顕著である。他方、 $IL-8$ についての効果はかなり劣る。

詳細には、図3及び4から、 $1\alpha, 25(\text{OH})_2\text{D}_3$ 未処理の場合は、6時間培養後の $IL-1\alpha$ 及び $IL-1\beta$ の産生量は、それぞれ $199.8 \pm 0.65\text{ pg} / 10^6$ 個及び $29.9 \pm 2.8\text{ pg} / 10^6$ 個であり、これらは、それぞれ12時間培養後に約1.5倍に増加するが、 $1\alpha, 25(\text{OH})_2\text{D}_3$ 処理群における $IL-1\alpha$ 及び $IL-1\beta$ の6時間培養後の産生量は、 $1\alpha, 25(\text{OH})_2\text{D}_3$ の濃度に関係なく、それぞれ未処理の場合の25%及び約77%程度に過ぎない。そして、それらの値は12時間培養しても殆ど増加しないことが分かる。また、図5からは、 $1\alpha, 25(\text{OH})_2\text{D}_3$ 処理群における $IL-8$ の6時間培養後の産生量は、未処理群に比べて濃度依存的に有意に低下するが、12時間培養では未処理群に比べて有意に低下しないことが分かる。

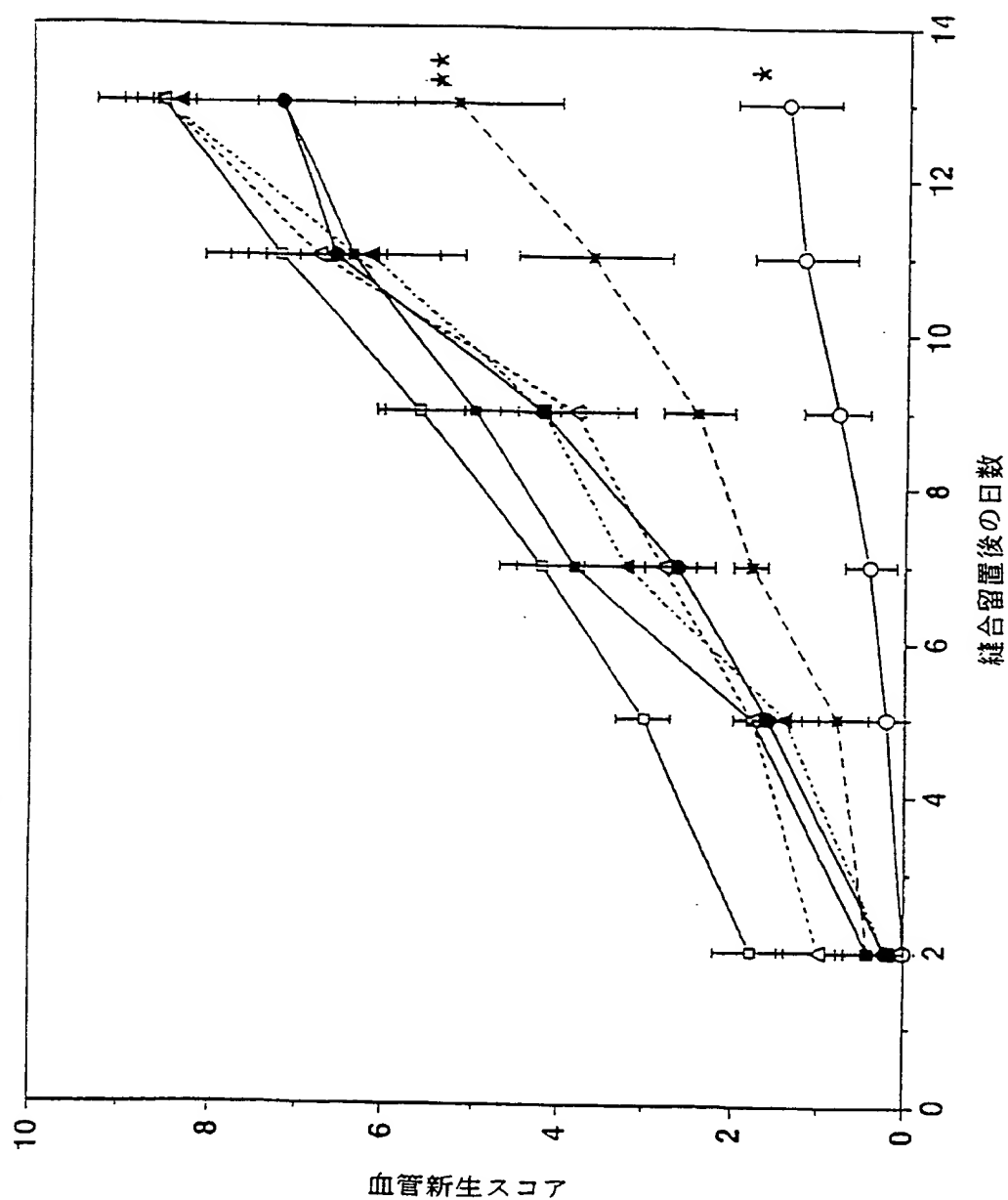
以上から、in vitro では、 $1\alpha, 25(\text{OH})_2\text{D}_3$ によるヒト角膜上皮細胞での $IL-1$ の産生抑制効果は非常に強いが、 $IL-8$ の抑制効果は比較的弱いことが明らかである。これは、角膜上皮細胞に対して $1\alpha, 25(\text{OH})_2\text{D}_3$ が直接に $IL-1$ の産生を抑制することを示した初めての知見である。in vitro で $IL-1$ の産生抑制効果が強いことは in vivo でランゲルハンス細胞遊走抑制作用が強いことに対応し、また、in vitro で $IL-8$ の抑制効果が比較的弱いことは in vivo で血管新生抑制作用が相対的に弱いことに対応するので、上記の結

果は、 $1\alpha, 25(\text{OH})_2\text{D}_3$ による角膜上皮におけるランゲルハンス細胞の遊走
阻害は、 $1\alpha, 25(\text{OH})_2\text{D}_3$ が角膜上皮においてIL-1の産生を抑制すること
によりもたらされることが考えられる。

請 求 の 範 囲

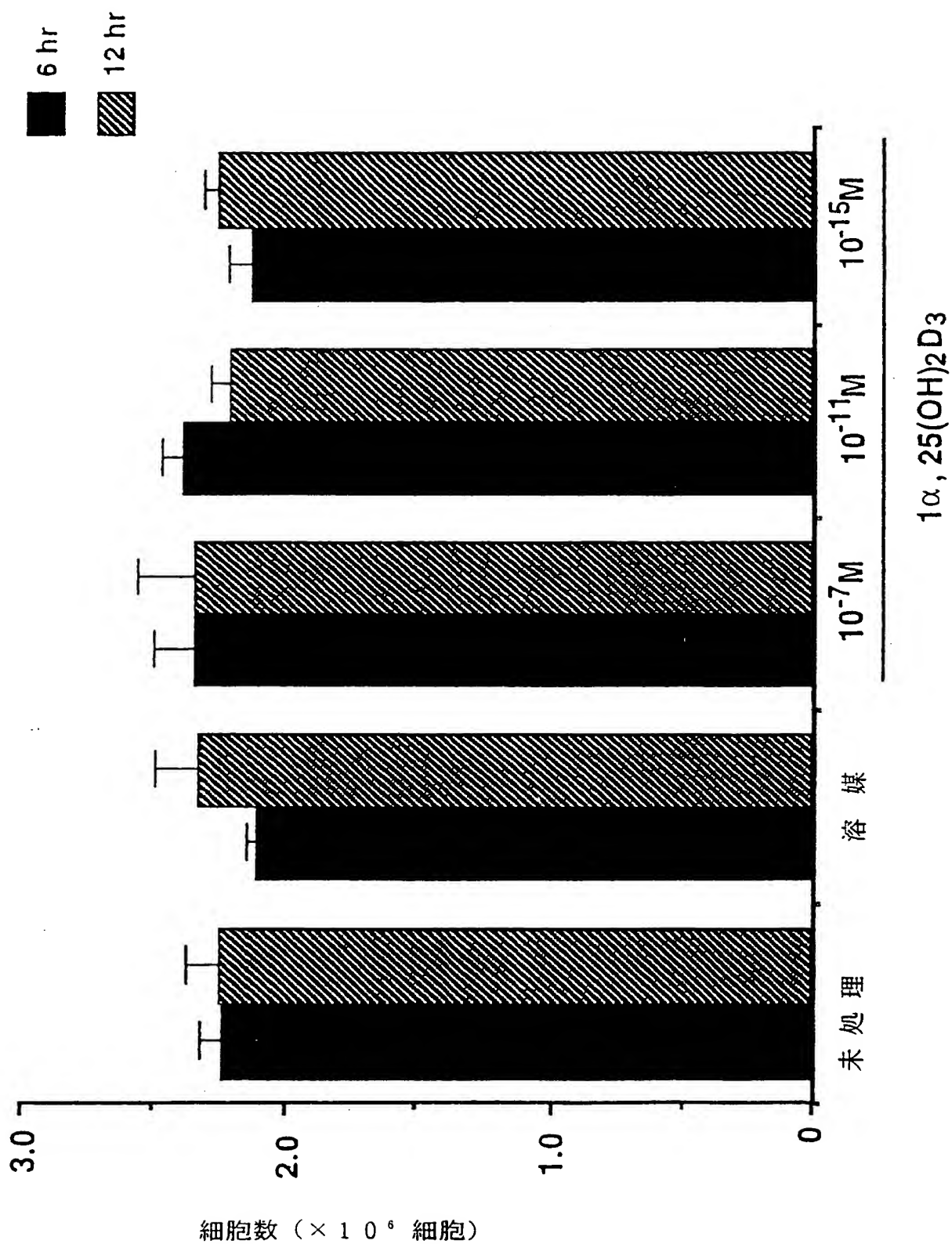
1. 活性型ビタミンDを有効成分とするランゲルハンス細胞遊走阻害剤。
2. 活性型ビタミンDが、ビタミンD₃、ビタミンD₃誘導体又はビタミンD₃類似体である請求項1記載のランゲルハンス細胞遊走阻害剤。
3. 活性型ビタミンDがビタミンD₃である請求項2記載のランゲルハンス細胞遊走阻害剤。
4. 活性型ビタミンD₃がカルシトリオール又は22-オキサカルシトリオールである請求項3記載のランゲルハンス細胞遊走阻害剤。
- 10 5. 点眼剤である請求項1～4のいずれか1項に記載のランゲルハンス細胞遊走阻害剤。
6. 眼の炎症の予防及び／又は治療に用いる請求項5記載のランゲルハンス細胞遊走阻害剤。
7. 眼の炎症が角結膜炎である請求項6記載のランゲルハンス細胞遊走阻害剤。
- 15 8. 眼の炎症の予防に用いる請求項5記載のランゲルハンス細胞遊走阻害剤。
9. 眼の炎症が角膜フリクテン又は角膜浸潤である請求項8記載のランゲルハンス細胞遊走阻害剤。
10. 角膜上皮細胞におけるインターロイキン-1の産生を抑制することにより眼の炎症を予防及び／又は治療する請求項5記載のランゲルハンス細胞遊走阻害剤。
- 20

縫合により誘発された角膜の血管新生

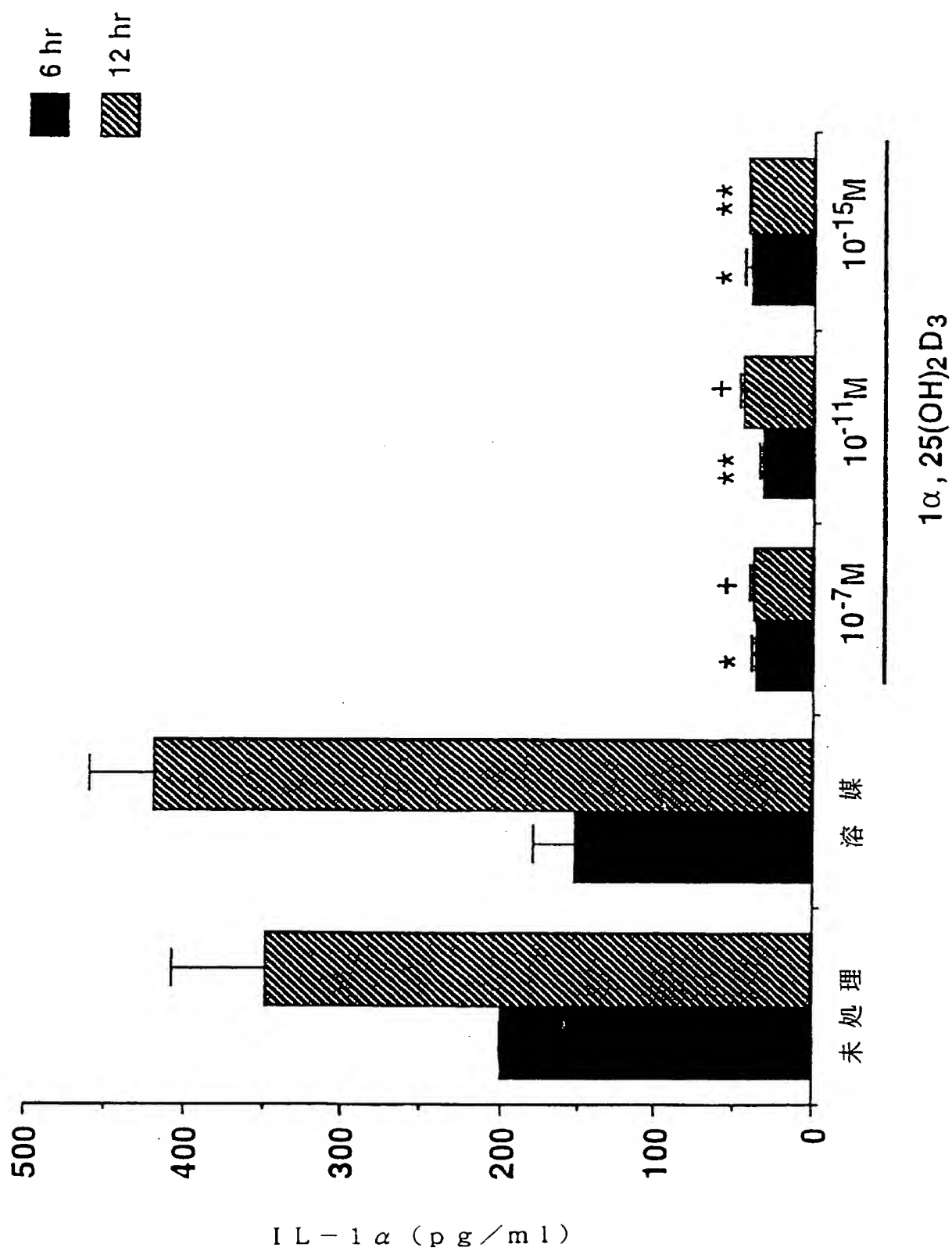


1

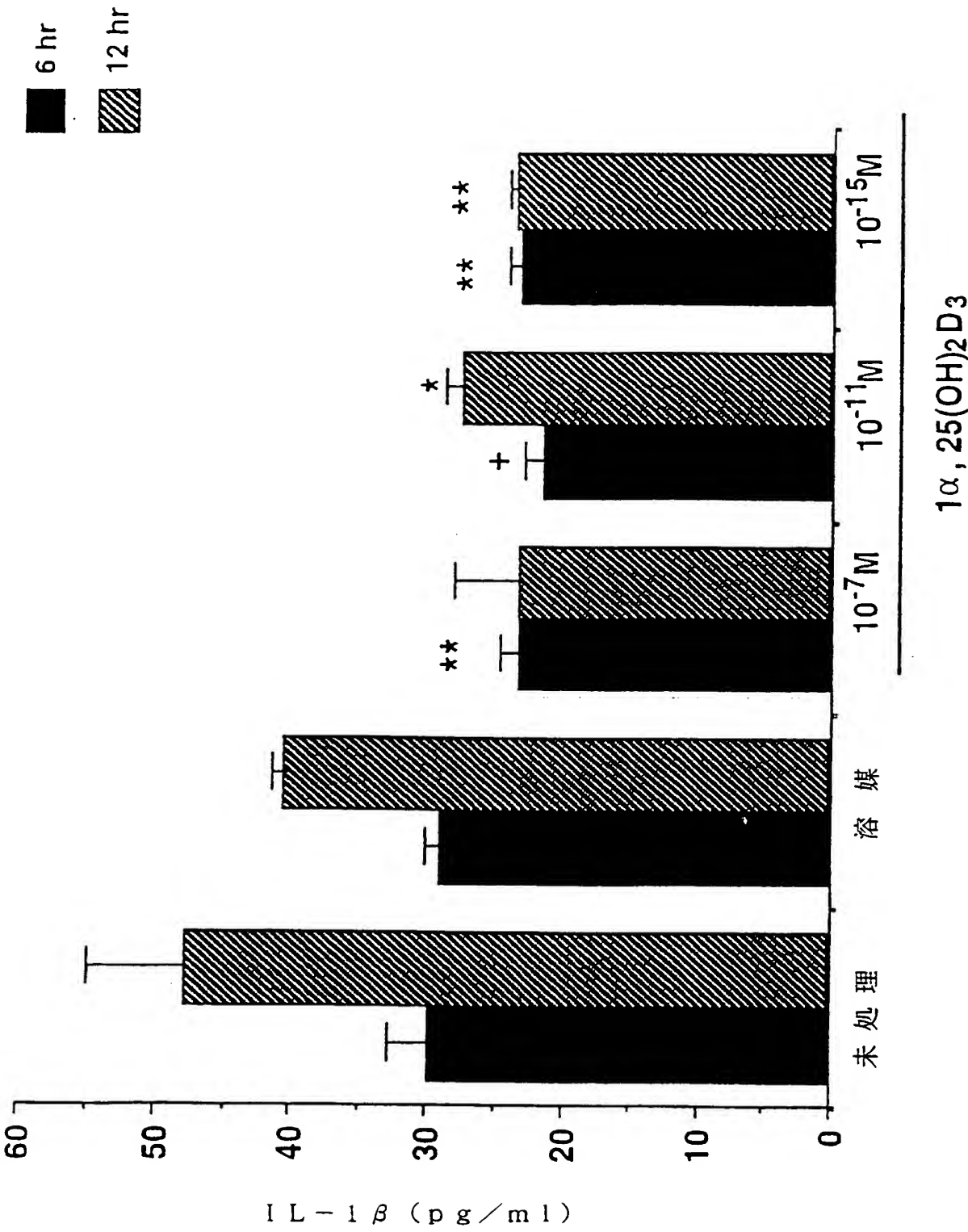
図 2



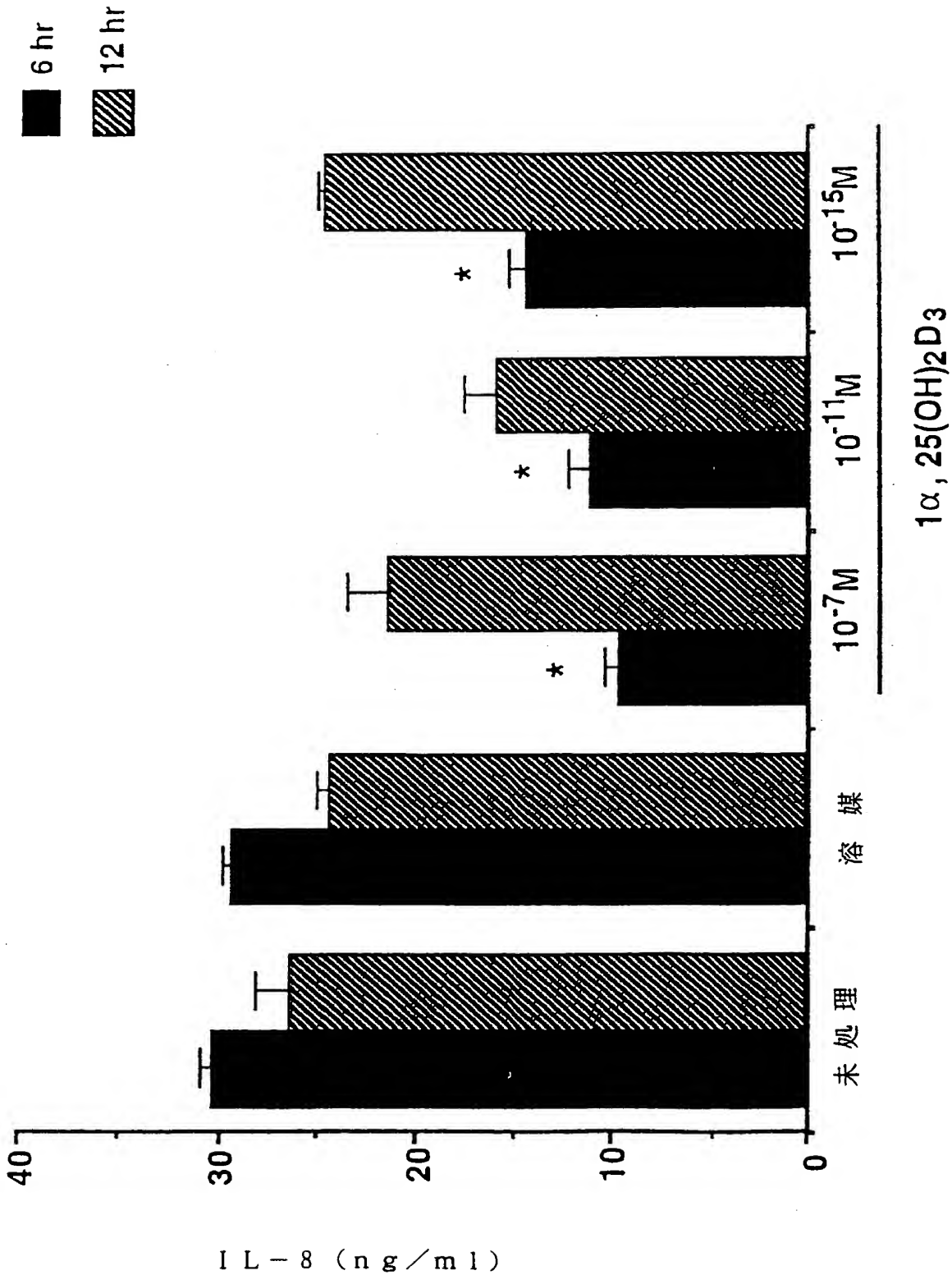
3



4



5



INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP99/00833

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

Int.Cl⁶ A61K31/59

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

Int.Cl⁶ A61K31/59

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)

CA (STN)

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X Y	T. N. Dam et al., "The Vitamin D ₃ Analog Calcipotriol Suppresses the Number and Antigen-Presenting Function of Langerhans Cells in Normal Human Skin.", J. Invest. Dermatol. Symp. Proc., (1996), Vol. 1, No. 1, p.72-77	1-4 5-10
X Y	M. Bagot et al., "Immunosuppressive effects of 1,25-dihydroxy vitamin D ₃ and its analog calcipotriol on epidermal cells.", Br. J. dermatol., (1994), Vol. 130, No. 4, p.424-31	1-4 5-10
Y	Noriko Takaura et al., "Ketsumaku ni okeru S-100 tampaku yousei saibou no bumpu", Acta Societatis Ophthalmologicae Japonicae, (1995), Vol. 99, No. 8, p.873-7	5-10
A	Michiharu Ishizaki, "Shunki kataru", Atarashii Ganka, (1993), Vol. 10, No. 11, p.1821-30	5-10

☒ Further documents are listed in the continuation of Box C.☐ See patent family annex.

* Special categories of cited documents:

"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance

"E" earlier document but published on or after the international filing date

"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)

"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means

"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention

"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone

"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art

"&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search
17 May, 1999 (17. 05. 99)

Date of mailing of the international search report
1 June, 1999 (01. 06. 99)

Name and mailing address of the ISA/
Japanese Patent Office

Authorized officer

Facsimile No.

Telephone No.

International application No.

C (Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Form PCT/ISA/210 (continuation of second sheet) (July 1992)

A. 発明の属する分野の分類 (国際特許分類 (IPC))

Int. Cl.⁶ A61K31/59

B. 調査を行った分野

調査を行った最小限資料 (国際特許分類 (IPC))

Int. Cl.⁶ A61K31/59

最小限資料以外の資料で調査を行った分野に含まれるもの

国際調査で使用した電子データベース (データベースの名称、調査に使用した用語)

CA (STN)

C. 関連すると認められる文献

引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求の範囲の番号
X Y	T. N. Dam et.al, 'The Vitamin D ₃ Analog Calcipotriol Suppresses the Number and Antigen-Presenting Function of Langerhans Cells in Normal Human Skin.', J. Invest. Dermatol. Symp. Proc., (1996), Vol.1, No.1, p.72-77	1-4 5-10
X Y	M. Bagot et.al, 'Immunosuppressive effects of 1,25-dihydroxy vitamin D ₃ and its analog calcipotriol on epidermal cells.', Br. J. Dermatol., (1994), Vol.130, No.4, p.424-31	1-4 5-10
Y	高浦典子等, 「結膜における S-100 蛋白溶性細胞の分布」, 日本眼科学会雑誌, (1995), Vol.99, No.8, p.873-7	5-10

☒ C欄の続きにも文献が列挙されている。☐ パテントファミリーに関する別紙を参照。

* 引用文献のカテゴリー

- 「A」 特に関連のある文献ではなく、一般的技術水準を示すもの
「E」 国際出願日前の出願または特許であるが、国際出願日以後に公表されたもの
「L」 優先権主張に疑義を提起する文献又は他の文献の発行日若しくは他の特別な理由を確立するために引用する文献 (理由を付す)
「O」 口頭による開示、使用、展示等に言及する文献
「P」 国際出願日前で、かつ優先権の主張の基礎となる出願

の日の後に公表された文献

- 「T」 国際出願日又は優先日後に公表された文献であって出願と矛盾するものではなく、発明の原理又は理論の理解のために引用するもの
「X」 特に関連のある文献であって、当該文献のみで発明の新規性又は進歩性がないと考えられるもの
「Y」 特に関連のある文献であって、当該文献と他の1以上の文献との、当業者にとって自明である組合せによって進歩性がないと考えられるもの
「&」 同一パテントファミリー文献

国際調査を完了した日

17.05.99

国際調査報告の発送日

01.06.99

国際調査機関の名称及びあて先

日本国特許庁 (ISA/J P)

郵便番号100-8915

東京都千代田区霞が関三丁目4番3号

特許庁審査官 (権限のある職員)

上條 のぶよ



4C

9454

電話番号 03-3581-1101 内線 3452

C (続き) . 関連すると認められる文献		
引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求の範囲の番号
A	石崎道治, 「春季カタル」, あたらしい眼科, (1993), Vol. 10, No. 11, p. 1821-30	5-10
A	Z. Guo et.al, 'The effect of 1,25(OH) ₂ -vitamin D ₃ on Langerhans cells and contact hypersensitivity in mice.', Arch. Dermatol. Res., (1992), Vol. 284, No. 6, p. 368-70	1-10